

Alfafetoproteína (CLIA)

Información para pedidos

Número de catálogo	Tamaño de envase
AFP111	2 × 50 pruebas
AFP112	2 × 100 pruebas
AFP113	2 × 30 pruebas

Uso Previsto

El ensayo de AFP de la serie CL es un inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de alfafetoproteína (AFP) en suero o plasma humano.

Resumen

La alfafetoproteína (AFP) es una alfa globulina embríoespecífica y es una glicoproteína de cadena polipeptídica única con un peso molecular de aproximadamente 70 000 daltones. Es la proteína principal de la circulación fetal, así como la albúmina. La síntesis de AFP se produce principalmente en el saco vitelino, hígado y tracto gastrointestinal del feto.¹ Se secreta en el suero fetal y se puede detectar en la circulación fetal a los 30 días de gestación. Alcanza un pico aproximadamente a las 13 semanas de gestación y disminuye gradualmente a partir de ahí.²⁻³ Posteriormente, vuelven a aparecer niveles elevados de AFP en suero durante el embarazo y junto con varias enfermedades malignas.²⁻⁴ Se pueden detectar niveles elevados de AFP en suero en aproximadamente un 80% de pacientes con carcinoma hepático y un 50% de pacientes con tumores de células germinales. También se puede detectar en otros pacientes como los que tienen tumores gastrointestinales. La síntesis de AFP es obviamente elevada en los carcinomas hepáticos, incluso aunque el cuerpo del carcinoma sea muy pequeño. Por lo tanto, el carcinoma hepático se puede detectar lo antes posible gracias a la detección de AFP, junto con algunas otras pruebas.⁵⁻⁶ También se ha descubierto que la AFP en suero es elevada durante el embarazo en enfermedades como, por ejemplo, hepatitis viral aguda, hepatitis activa crónica y cirrosis, pero no tan alta como en el carcinoma hepático.

El nivel de AFP en suero en pacientes con cirrosis suele ser de entre 25 y 200 ng/ml, y disminuye gradualmente con un buen crecimiento de pacientes de 2 meses. El nivel elevado de AFP en suero normalmente acompaña a una nivel elevado de transaminasas. Si el nivel de AFP en suero es elevado mientras que el nivel de transaminasas es reducido, o bien el nivel de AFP en suero es superior a 500 ng/ml, es muy posible que haya un carcinoma hepático.⁶⁻⁷⁻⁸

No se recomienda la prueba de AFP como procedimiento de tamizaje para detectar cáncer en la población general.

Principio del ensayo

El ensayo de AFP de la serie CL es un ensayo de tipo sándwich con dos anticuerpos para determinar el nivel de AFP.

En el primer paso, la muestra, micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo anti-AFP monoclonal de ratón y conjugado marcado de anticuerpos anti-AFP monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina se añaden a un recipiente de reacción. Tras la incubación, la AFP presente en la muestra se fija a las micropartículas recubiertas de anticuerpo anti-AFP monoclonal de ratón. Mientras tanto, el conjugado marcado de anticuerpos anti-AFP monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina se fija a otro sitio de reacción de la AFP para formar un complejo de sándwich. Las micropartículas se capturan magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante el lavado.

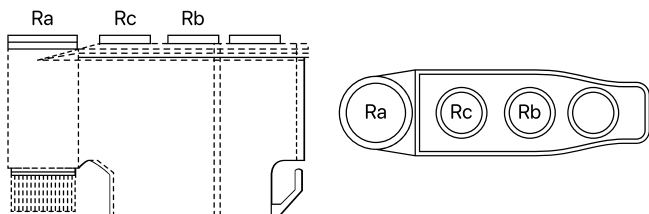
En el segundo paso, se añade la solución de sustrato al recipiente de reacción. Se cataliza mediante el conjugado de anticuerpos anti-AFP monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina en el inmunocomplejo retenido en las micropartículas. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades de luz relativa (RLU) mediante un fotomultiplicador integrado en el sistema. La cantidad de AFP presente en la muestra es proporcional a las unidades de luz relativa (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de AFP se puede determinar mediante una curva de calibración.



Componentes del reactivo

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo anti-AFP monoclonal (ratón) en tampón de TRIS con conservador.
Rb	Conjugado de anticuerpos anti-AFP monoclonales (ratón) y fosfatasa alcalina en tampón de PBS con conservador.
Rc	Tampón de TRIS con conservador.

La posición de los componentes del reactivo se muestra en la siguiente figura (vista frontal a la izquierda y vista superior a la derecha):



Almacenamiento y estabilidad

El kit de reactivos de AFP (CLIA) sin abrir es estable hasta la fecha de caducidad indicada si se almacena a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

El kit de reactivos de AFP (CLIA) se puede almacenar en el dispositivo y utilizar durante un máximo de 56 días después de la apertura a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

Preparación del reactivo

Ra: Listo para su utilización

Rb: Listo para su utilización

Rc: Listo para su utilización

Materiales necesarios pero no incluidos

Analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray

Número de catálogo AFP211: calibradores de AFP de Mindray. 1×2,0 ml para cada calibrador C0, C1 y C2.

Número de catálogo AFP212: calibradores de AFP de Mindray. 1×1,2 ml C0, 1×1,0 ml C1 y 1×1,0 ml C2.

N.º de catálogo TMI311/TMI312/TMI313/TMI314: multicontrol de marcadores tumorales (L) de Mindray, 6×5,0 ml/12×5,0 ml/1×5,0 ml/3×5,0 ml.

N.º de catálogo TMI311/TMI312/TMI313/TMI314: multicontrol de marcadores tumorales (H) de Mindray, 6×5,0 ml/12×5,0 ml/1×5,0 ml/3×5,0 ml.

N.º de catálogo TMI321/TMI322/TMI323/TMI324: multicontrol de marcadores tumorales (L) de Mindray, 1×5,0 ml/3×5,0 ml/6×5,0 ml/12×5,0 ml.

N.º de catálogo TMI321/TMI322/TMI323/TMI324: multicontrol de marcadores tumorales (H) de Mindray, 1×5,0 ml/3×5,0 ml/6×5,0 ml/12×5,0 ml.

N.º cat. WB411: tampón de lavado de Mindray, 1 × 10 l.

N.º cat. CS511/CS512: solución de sustrato de Mindray, 4×115 ml/4×75 ml.

Recipientes de reacción de Mindray.

Instrumento aplicable

Analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray.

Toma y preparación de muestras

Para este ensayo se recomienda el uso de plasma o suero humano recogido en etilendiaminotetraacético (EDTA), heparina sódica y heparina de litio.

Centrifugue las muestras después de que se complete la formación del coágulo. Transfiera los sobrenadantes a tubos para el almacenamiento o pruebas en un plazo de dos horas posteriores a la centrifugación.

Las muestras se deben probar tan pronto como sea posible tras la recogida de muestras. Si las pruebas no se completan en un plazo de 8 horas, las muestras se deben cerrar de forma hermética y refrigerar a entre 2 y 8 °C. Si las pruebas se van a posponer más de 72 horas, las muestras se deben congelar a un mínimo de -20 °C. Evite los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento del ensayo

Para un rendimiento óptimo del ensayo, los operadores deben leer detenidamente el manual de funcionamiento del sistema para obtener suficiente información como instrucciones de funcionamiento, manejo y conservación de muestras, precauciones de seguridad y mantenimiento. Prepare también todo el material necesario para el ensayo.



Antes de cargar el kit de reactivos de AFP (CLIA) en la máquina por primera vez, se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir al menos 30 veces para volver a suspender las micropartículas asentadas durante el envío o el almacenamiento. Realice una inspección visual del frasco para garantizar que las micropartículas se han vuelto a suspender. Si las micropartículas siguen adheridas al frasco, siga invirtiéndolo hasta que se vuelvan a suspender por completo. Si las micropartículas no se pueden volver a suspender, no se recomienda el uso del frasco de reactivos. Póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda. No invierta un frasco de reactivos abierto.

El ensayo requiere 15 µl de muestra para una sola prueba. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras. A la hora de realizar pruebas adicionales de la misma muestra, es necesario un volumen adicional. Los operadores deben consultar el manual de funcionamiento del sistema y los requisitos específicos del ensayo para determinar el volumen mínimo de la muestra.

Calibración

La AFP de la serie CL (CLIA) se ha estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de alfafetoproteína (código NIBSC: AFP). La información específica de la curva de calibración principal del kit de reactivos de AFP (CLIA) está almacenada en el código de barras bidimensional adherido al paquete de reactivos. Se utiliza con calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, escanee primero la información de la curva de calibración principal del código de barras en el sistema. A continuación, utilice los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de AFP. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del sistema.

Control de calidad

Se recomienda que los controles de calidad se ejecuten cada 24 horas si las pruebas están en uso o después de cada calibración.

La frecuencia del control de calidad se debe adaptar a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los dos niveles recomendados de controles de calidad para este ensayo son multicontrol de marcadores tumorales (L) y multicontrol de marcadores tumoral (H) de Mindray.

Los resultados de control de calidad deben estar dentro de los intervalos aceptables. Si un control no se encuentra dentro del intervalo especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y las muestras se deben probar de nuevo. Es posible que sea necesaria una recalibración. Examine el sistema de ensayo. Para ello, consulte el manual de funcionamiento del sistema. Si los resultados del control de calidad aún no se encuentran dentro del intervalo especificado, póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analitos de cada muestra en la curva de calibración principal leída del código de barras y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las unidades de luz relativa (RLU) generadas por calibradores de tres niveles de valores de concentración definidos. Los resultados se muestran en ng/ml.

Factores de conversión: $\text{ng/ml} \times 0,83 = \text{UI/mL}$
 $\text{UI/mL} \times 1,21 = \text{ng/mL}$

Dilución

Las muestras con concentraciones AFP que sobrepasan el límite superior se pueden diluir con el diluyente de muestra Mindray. El diluyente recomendado es 1:40 (ya sea manualmente o de forma automática mediante el analizador). La concentración de la muestra diluida debe ser >10 ng/ml. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Después de que los analizadores realizan la dilución automática, el sistema automáticamente multiplica el resultado por el factor de dilución cuando calcula la concentración de la muestra.

Valores esperados

Un amplio estudio de una población de 736 individuos sanos (345 hombres y 391 mujeres) ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de AFP de la serie CL.



Categoría	N	límite superior del 95% intervalo central
Hombre	345	7,2 ng/mL
Mujer	391	7,4 ng/mL
Total	736	7,0 ng/mL

Debido a la variación de geografía, etnia, sexo y edad, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitación

El kit NO está diseñado para la evaluación de riesgo de la trisomía 21.

El límite superior del ensayo es de 1210 ng. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de CEA inferior al límite superior, mientras que una muestra con una concentración mayor que el límite superior se notificará como >1210 ng/ml o diluir las muestras con el diluyente de muestras de Mindray.

La concentración de AFP en una muestra concreta, determinada con ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

La muestra de los individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón puede contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits de ensayo que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Características de desempeño

Sensibilidad analítica y límite de detección

El kit de reactivos de AFP (CLIA) tiene una sensibilidad analítica de $\leq 0,5$ ng/ml. La sensibilidad analítica se define como la menor concentración de analitos que se puede diferenciar en una muestra que no contiene analitos. Se define como la concentración de AFP en dos desviaciones estándar por encima de la RLU media de 20 mediciones de una muestra sin analitos.

Intervalo posible

El intervalo notificable se define mediante la sensibilidad analítica y el límite superior de la curva de calibración principal. El intervalo notificable del kit de reactivos de AFP (CLIA) es de 0,5 a 1210 ng/ml (o el límite superior llega hasta los 48400 ng/ml para las muestras diluidas de 40 dimensiones).

Especificidad

Los niveles de hemoglobina de hasta 500 mg/dl, bilirrubina de hasta 20 mg/dl, triglicéridos de hasta 520 mg/dl y proteínas totales de hasta 10,0 g/dl no interferirán en el ensayo de AFP de la serie CL. Estas sustancias muestran menos del 10% de interferencias con la concentración indicada.

No se observaron interferencias evidentes del factor reumatoide de hasta 1500 UI/ml ni del anticuerpo antinuclear de hasta 4000 UI.

No se observó ninguna reactividad cruzada significativa cuando se añadieron gonadotropina coriónica humana (HCG), α -1-glicoproteína ácida, transferrina, α -1-antitripsina y prolactina (PRL) al calibrador de AFP CO(2) con los niveles específicos indicados en la tabla siguiente. Los resultados no mostraron más de 2,0 ng/ml en el ensayo de AFP de la serie CL con los niveles indicados a continuación.

Substratos	Concentración de reactivos cruzados
HCG	1000 mIU/ml
α -1-glicoproteína ácida	2 mg/ml
Transferrina	400 mg/dl
α -1-antitripsina	500 mg/dl
PRL	50.000 mIU/ml

Se llevaron a cabo pruebas de sustancias de interferencia en 6 fármacos utilizados habitualmente. Estos compuestos mostraron una interferencia inferior al 10% en el ensayo de AFP de la serie CL con los niveles indicados a continuación.



Compuesto de la prueba	Concentración de sustancia de interferencia
Acetaminofeno	200 µg/ml
Ácido acetilsalicílico	0,50 mg/ml
Cisplatino	100 µg/ml
Ácido ascórbico	1000 µg/ml
Ciclofosfamida	25 mg/dl
Vincristina	70 mg/dl

El calibrador de AFP CO(2) de Mindray se complementó con otros marcadores tumorales, como antígeno prostático específico (PSA), antígeno de cáncer 125 (CA 125), antígeno de cáncer 15-3 (CA 15-3), antígeno de carbohidrato 19-9 (CA 19-9), antígeno carcinoembrionario (CEA) y ferritina (FERR) con los niveles específicos indicados en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente, dado que todos los resultados fueron $\leq 5,0$ ng. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Marcador tumoral	Concentración	AFP notificada (ng/ml)	Criterios de aceptación
PSA	100 ng/mL	0,00	AFP notificada $\leq 5,0$ ng/ml
CA 125	1000 U/mL	0,01	
CA 15-3	100 U/mL	0,01	
CA 19-9	1000 U/mL	0,00	
CEA	1000 ng/mL	0,00	
FERR	1000 ng/mL	4,61	

Gancho a altas dosis

Para el ensayo de AFP de la serie CL, no se observó ningún efecto gancho de alta dosis al examinar muestras con hasta aproximadamente 120 000 ng/ml de AFP.

Precisión

Se utilizó una muestra del estándar internacional de la OMS de alfafetoproteína (código NIBSC: AFP) con un valor rastreadable y definido para verificar la precisión del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a $\pm 10\%$. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	AFP medida (ng/ml)	Valor de AFP (ng/ml)	Desviación relativa:
AFP de la OMS	112,64	116,83	-3,59%

Precisión

El ensayo de AFP de la serie CL está diseñado para tener una precisión de $\leq 10\%$ (CV dentro del dispositivo). La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). (8) Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días. Se utilizó un lote de reactivos y una curva de calibración. Los datos de precisión se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	AFP media (ng/ml)	CV de la serie	CV entre las series	CV de la dispositivo
1	10,40	4,05 %	5,14 %	9,07 %
2	102,27	3,56 %	4,44 %	8,86 %

Linealidad

Se mezcló una muestra con alta concentración de AFP (aproximadamente 400 ng/ml) con una muestra con baja concentración ($< 1,0$ ng/ml) con distintas proporciones, generando una serie de diluciones. La AFP de cada dilución se determinó mediante el ensayo de AFP de la serie CL de Mindray. La linealidad se demostró en el intervalo de 1,0 ng/ml a 400 ng/ml, el coeficiente de correlación r es $\geq 0,9900$. Los datos de linealidad se resumen en la tabla siguiente.

Concentración (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
AFP esperada	0,14	104,75	209,35	313,96	418,56	523,16
AFP medida	0,14	103,14	208,47	313,14	415,70	523,16

Comparación de métodos

El ensayo de AFP de la serie CL de Mindray se comparó con un kit de diagnóstico disponible en el mercado en un estudio de correlación con aproximadamente 1287 muestras. Los datos estadísticos obtenidos mediante el modo informático de Deming se muestran en la siguiente tabla.



Intervalo de concentración (ng/ml)	Pendiente	Intercepto	Coefficiente de correlación
0,13-1476,15	0,949	0,115	0,996

Advertencias y precauciones

1. Exclusivo para uso diagnóstico in vitro.
2. Respete las normas de utilización de reactivos de laboratorio y tome las medidas de seguridad necesarias.
3. Debido a las diferencias de metodología y especificidad de anticuerpos, los resultados de las pruebas de la misma muestra pueden diferir al utilizar kits de reactivos de distintos fabricantes en el sistema de Mindray o al utilizar kits de reactivos de Mindray en otros sistemas.
4. No utilice kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
5. No utilice reactivos mezclados de distintos lotes de reactivos.
6. Mantenga el kit de reactivos en posición vertical para garantizar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
7. No se recomienda el uso de un kit de reactivos que haya estado abierto durante más de 56 días.
8. La fiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si no se siguen las instrucciones del prospecto.
9. Todas las muestras y residuos de reacción se deben considerar como potencialmente infecciosos. La manipulación de muestras y residuos de reactivos deben realizarse de acuerdo con las normativas y directrices.
10. La hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS) está disponible bajo petición.



In Vitro Diagnostic
medical device



Batch Code



European
Conformity



Authorized
representative in
the European
Community



Use-by date



Consult Instructions
for use



Caution



Temperature
Limit



Manufacturer



Catalogue
number



This Way Up

Referencias

1. Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human a-fetoprotein. Int. J. Cancer 1971; 7: 218.
2. Palomaki GE, Hill LE, Knight GJ, et al. Second Trimester Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Pregnancies Associated with Gastroschisis and Omphalocele. Obstet Gynecol 1988; 71:906-9.
3. Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of a-fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human concepts. Cancer Res 1972; 32: 979.
4. Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in Patients with Unusually High Maternal Serum Alpha-fetoprotein Levels. Am J Obstet Gynecol 1987; 157(3):572-5.
5. Taketa K. Alpha-Fetoprotein in the 1990s. En: Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press 1992: 31-46, ISBN: 0-89603-209-4.
6. Silver HKB, Gold P, Feder S, Freedman SO, Shuster J. Radioimmunoassay for human alpha-fetoprotein. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1973; 70: 526-30.
7. Perlin E, Engeler JE, Edson M, Karp D, McIntire KR, Waldmann TA. The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alphafetoprotein for monitoring germinal cell tumors. Cancer 1976; 37: 215-9.
8. Endo Y, Kanai K, Oda T, Mitamura K, Iino S, Suzuki H. Clinical significance of a-fetoprotein in hepatitis and liver cirrhosis. Ann NY Acad Sci 1975; 259: 234.
9. NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Reservados todos los derechos.

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Dirección: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 R.P. China

Dirección de correo electrónico: service@mindray.com

Sitio web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-81888998

Fax.: +86-755-26582680

Representante de la CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Dirección: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Alemania

Tel.: 0049-40-2513175

Fax.: 0049-40-255726

